

PATENT  
2121-0177P

IN THE U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant: MANACH, Michel et al. Conf.:  
Appl. No.: 10/678,114 Group: Unassigned  
Filed: October 6, 2003 Examiner: Unassigned  
For: INSTALLATION FOR CONTINUOUSLY  
TREATING SAMPLES, BY SEPARATION ON A  
STATIONERY PHASE, UNDER FORCED FLOW

L E T T E R

Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450  
Alexandria, VA 22313-1450

January 29, 2004

Sir:

Under the provisions of 35 U.S.C. § 119 and 37 C.F.R. § 1.55(a), the applicants hereby claim the right of priority based on the following application:


<u>Country</u>	<u>Application No.</u>	<u>Filed</u>
FRANCE	0104745	April 6, 2001

A certified copy of the above-noted application is attached hereto.

If necessary, the Commissioner is hereby authorized in this, concurrent, and future replies, to charge payment or credit any overpayment to Deposit Account No. 02-2448 for any additional fee required under 37 C.F.R. §§ 1.16 or 1.17; particularly, extension of time fees.

Respectfully submitted,

BIRCH, STEWART, KOLASCH & BIRCH, LLP

By  #42.874  
Gerald M. Murphy, Jr., #28,977

GMM/CAM:bmp  
2121-0177P

P.O. Box 747  
Falls Church, VA 22040-0747  
(703) 205-8000

Attachment









Binch, Stewart, Kellogg + Binch, LLP  
703/205-8000  
App. No.: 10/678,114  
Filed: 10-06-2003  
Mouad et al.  
Attorney Docket: 2121-0177P

# BREVET D'INVENTION

## CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

### COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le **01 OCT. 2003**

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE

SIEGE  
26 bis, rue de Saint Petersburg  
75800 PARIS cedex 08  
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04  
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 23  
[www.inpi.fr](http://www.inpi.fr)









26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 94 86 54

# BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



N° 11354\*01

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 1/2

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 W / 260899

REMISE DES PIÈCES DATE <b>6 AVRIL 2001</b> LIEU <b>75 INPI PARIS</b> N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI <b>0104745</b> DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI <b>06 AVR. 2001</b>		<b>1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE</b> ERNEST GUTMANN-YVES PLASSERAUD S.A. 3 rue Chauveau-Lagarde 75008 PARIS	
Vos références pour ce dossier (facultatif) B4745-LBi			
Confirmation d'un dépôt par télécopie <input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie			
<b>2 NATURE DE LA DEMANDE</b>		<b>Cochez l'une des 4 cases suivantes</b>	
Demande de brevet		<input checked="" type="checkbox"/>	
Demande de certificat d'utilité		<input type="checkbox"/>	
Demande divisionnaire		<input type="checkbox"/>	
Demande de brevet initiale ou demande de certificat d'utilité initiale		N°	Date <input type="text"/>
		N°	Date <input type="text"/>
Transformation d'une demande de brevet européen		<input type="checkbox"/>	Date <input type="text"/>
Demande de brevet initiale		N°	Date <input type="text"/>
<b>3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)</b> INSTALLATION DE TRAITEMENT D'ÉCHANTILLONS EN CONTINU, PAR SÉPARATION SUR UNE PHASE STATIONNAIRE, SOUS FLUX FORCE.			
<b>4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE</b>		Pays ou organisation Date <input type="text"/> N° Pays ou organisation Date <input type="text"/> N° Pays ou organisation Date <input type="text"/> N° <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
<b>5 DEMANDEUR</b>		<input type="checkbox"/> S'il y a d'autres demandeurs, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
Nom ou dénomination sociale		BIONISIS S.A.	
Prénoms			
Forme juridique		Société Anonyme	
N° SIREN			
Code APE-NAF			
Adresse	Rue	18-20 avenue Edouard Herriot Parc Technologique, Bâtiment "Le Carnot", Hall 9	
	Code postal et ville	92350	LE PLESSIS ROBINSON
Pays		FRANCE	
Nationalité		Française	
N° de téléphone (facultatif)			
N° de télécopie (facultatif)			
Adresse électronique (facultatif)			





# BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE 2/2

REMISE DES FICHES DATE <b>6 AVRIL 2001</b> LIEU <b>75 INPI PARIS</b>		Réservé à l'INPI	
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI		<b>0104745</b>	
<b>Vos références pour ce dossier :</b> <i>(facultatif)</i>		B4745-LBi	
<b>6 MANDATAIRE</b>			
Nom		VAILLANT	
Prénom		Jeanne	
Cabinet ou Société		ERNEST GUTMANN-YVES PLASSERAUD S.A.	
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel			
Adresse	Rue	3 rue Chauveau-Lagarde	
	Code postal et ville	75008	PARIS
N° de téléphone <i>(facultatif)</i>		01 44 51 18 00	
N° de télécopie <i>(facultatif)</i>		01 42 66 08 90	
Adresse électronique <i>(facultatif)</i>		info@egyp.fr	
<b>7 INVENTEUR (S)</b>			
Les inventeurs sont les demandeurs		<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non <b>Dans ce cas fournir une désignation d'inventeur(s) séparée</b>	
<b>8 RAPPORT DE RECHERCHE</b>		<b>Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)</b>	
Établissement immédiat ou établissement différé		<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
Paiement échelonné de la redevance.		<b>Paiement en trois versements, uniquement pour les personnes physiques</b> <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
<b>9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES</b>		<b>Uniquement pour les personnes physiques</b> <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention <i>(joindre un avis de non-imposition)</i> <input type="checkbox"/> Requête antérieurement à ce dépôt <i>(joindre une copie de la décision d'admission pour cette invention ou indiquer sa référence) :</i>	
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes			
<b>10 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE</b> (Nom et qualité du signataire) VAILLANT Jeanne CPI n° 97.0801		<b>VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI</b> 	

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.



L'invention concerne le domaine de la séparation des constituants  
5 d'échantillons complexes par chromatographie.

Les techniques de chromatographie, appelées « chromatographie liquide  
sur colonne » et « chromatographie planaire », permettent de séparer les  
constituants d'un échantillon dans un milieu attracteur appelé « phase  
stationnaire », à l'aide d'un fluide porteur appelé « phase mobile ».

10 Ces techniques diffèrent par le type de phase stationnaire utilisé et par le  
mode d'introduction de l'échantillon dans la phase stationnaire. Plus précisément,  
en chromatographie liquide sur colonne (plus connue sous l'acronyme anglais  
HPLC pour High Performance Liquid Chromatography) l'échantillon et la phase  
mobile sont introduits dans une boucle d'injection qui alimente une colonne,  
15 généralement cylindrique, contenant la phase stationnaire. L'opérateur contrôle le  
débit de la phase mobile dont l'injection s'effectue en continu, et par conséquent  
l'injection de l'échantillon se fait dans un système équilibré. Les constituants  
séparés de l'échantillon sortent de la colonne, puis sont élués et détectés en  
continu. Cette technique permet une automatisation complète, mais elle ne permet  
20 pas que plusieurs échantillons soient traités simultanément sur une même colonne ;  
seule la juxtaposition de plusieurs installations indépendantes peut permettre un  
traitement en parallèle. Par ailleurs, cette technique consomme une grande quantité  
de phase mobile.

En chromatographie planaire, on distingue deux sous-techniques appelées  
25 chromatographie en couche mince (plus connue sous l'acronyme anglais TLC pour  
Thin Layer Chromatography) et chromatographie sous flux forcé (plus connue sous  
l'acronyme anglais OPLC pour OverPressured Layer Chromatography ou Optimum  
Performance Layer Chromatography). Dans ces deux sous-techniques planaires  
différents échantillons sont déposés en des endroits choisis sur une couche formant  
30 la phase stationnaire, puis entraînés par la phase mobile selon un ordre connu



fonction de leur rétention. Dans la TLC les échantillons sont placés sur une phase stationnaire avant l'injection de la phase mobile. La phase stationnaire étant partiellement au contact de l'atmosphère, on constitue de ce fait un système à trois phases. Les échantillons ne sont pas élués et la détection s'effectue dans un détecteur externe après évaporation de la phase mobile. Dans l'OPLC, la phase stationnaire est hermétiquement isolée de l'atmosphère, et l'on exerce sur celle-ci une pression externe. Les échantillons peuvent être injectés avant la mise en mouvement de la phase mobile, comme dans le cas de la TLC, ou lorsque le système est équilibré, comme dans le cas de l'HPLC. De ce fait la détection peut s'effectuer de façon semi-continue ou discontinue. Ces deux sous-techniques permettent d'effectuer des détections successives sur une multiplicité d'échantillons venant d'être traités, mais elles ne permettent pas une automatisation complète. De plus, elles s'effectuent de manière discontinue, limitant ainsi la productivité tout en augmentant les coûts de traitement des échantillons.

L'invention a pour but de résoudre tout ou partie des inconvénients présentés ci-avant.

Elle propose à cet effet une installation de traitement d'échantillons par séparation chromatographique, dans laquelle on prévoit :

- \* des moyens d'alimentation permettant de délivrer au moins une phase mobile, sous un débit choisie et/ou une pression limite choisie,
- \* des moyens d'approvisionnement permettant de délivrer séparément une multiplicité d'échantillons,
- \* une multiplicité de moyens d'injection (par exemple de type vanne d'injection à boucle interne ou externe) présentant chacun au moins une première entrée pour recevoir un échantillon délivré par les moyens d'approvisionnement, une seconde entrée pour recevoir la (ou les) phase(s) mobile(s), et une sortie pour délivrer la (ou les) phase(s) mobile(s) et/ou l'échantillon,
- \* au moins une phase stationnaire qui définit au moins une multiplicité de canaux de traitement d'échantillon, chaque canal débutant en un premier endroit choisi et débouchant en un second endroit choisi, et



\* au moins une chambre logeant la phase stationnaire et comportant, d'une première part, des moyens de pressurisation externe pour appliquer une pression externe d'intensité choisie sur une face de la phase stationnaire, d'une seconde part, une multiplicité d'entrées raccordées chacune à la sortie d'un moyen  
5 d'injection, pour délivrer la (ou les) phase(s) mobile(s) et/ou les échantillons au niveau des différents premiers endroits, et d'une troisième part, au moins une première multiplicité de sorties pour évacuer la multiplicité d'échantillons traités dans les canaux et parvenus au niveau des différents seconds endroits.

L'expression « phase mobile » doit être comprise dans un sens large. Elle  
10 désigne tout fluide permettant de déplacer les constituants d'un échantillon sur une phase stationnaire, qu'il s'agisse d'un liquide, tel qu'un éluant, ou d'un gaz, tel que de l'air permettant de chasser (ou pousser) un solvant préalablement introduit dans la chambre de séparation.

L'invention présente ainsi les avantages des installations de type HPLC,  
15 pour ce qui concerne l'automatisation, et les avantages des installations de type OPLC, pour ce qui concerne le traitement simultané d'une multiplicité d'échantillons sur une unique phase stationnaire.

Selon une autre caractéristique de l'invention, l'installation comprend également des moyens de collecte permettant de collecter de façon individualisée  
20 chaque échantillon traité et/ou phase mobile délivré(s) par chacune des sorties de la chambre, en vue de le(s) stocker dans un récipient. La collecte peut être de type volumique, temporel ou à détection de seuil de signal. Par ailleurs, les moyens de collecte peuvent comporter une multiplicité de sorties et des moyens d'aiguillage pour délivrer selon les cas chaque échantillon et/ou phase mobile collecté au  
25 niveau de l'un des récipients et/ou au niveau de l'une des sorties.

Selon encore une autre caractéristique de l'invention, l'installation comprend des premiers moyens de détection (de préférence non invasifs, comme par exemple des détecteurs de photons visibles ou dans l'ultra-violet) permettant  
30 d'analyser simultanément, ou séquentiellement, les échantillons traités qui sont délivrés par les sorties de la chambre. Ces premiers moyens de détection peuvent être installés entre les sorties de la chambre et les moyens de collecte, ou bien en



aval des sorties des moyens de collecte (par exemple s'ils comportent des moyens d'aiguillage).

Avantageusement, l'installation peut également comporter des seconds moyens de détection permettant d'effectuer simultanément sur une multiplicité de  
5 voies, ou séquentiellement sur une unique voie, par exemple en aval des premiers moyens de détection, d'autres analyses que celles effectuées avec les premiers moyens de détection. Ces seconds moyens de détection sont de préférence installés en parallèle des moyens de collecte, et effectuent, par exemple, une  
10 détection de fluorescence, une détection par réfractométrie, une détection par diffraction de lumière, ou une détection par spectrométrie de masse.

L'installation peut comporter en outre d'autres caractéristiques, prises séparément et en combinaison, et notamment :

- \* des moyens de mémorisation pour stocker les résultats délivrés par les différents moyens de détection ;
- 15 \* des moyens d'approvisionnement comprenant un dispositif de préhension d'échantillon à déplacement tri-dimensionnel, permettant d'extraire les échantillons à traiter, contenus dans des conteneurs individualisés, pour alimenter les premières entrées des différents moyens d'injection ;
- \* une chambre agencée pour recevoir un tiroir extractible comprenant la phase  
20 stationnaire, éventuellement intégré dans une cassette extractible;
- \* des moyens de régulation permettant de contrôler la température d'une partie au moins de la phase stationnaire à l'intérieur de la chambre.

L'installation présentée ci-avant est particulièrement adaptée aux applications suivantes : criblage de molécules, notamment par couplage de ligand  
25 (immuno-chromatographie ou hybridation moléculaire), séparation par échange d'ions, préparation d'échantillons pour la chimie combinatoire ou l'extraction de produits naturels.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront à l'examen de la description détaillée ci-après, et des dessins annexés, sur lesquels :



- la figure 1 illustre schématiquement un exemple d'installation selon l'invention,
- la figure 2 est une vue en coupe longitudinale d'une variante de colonne plate de type bidirectionnel, et
- la figure 3 est une vue en coupe longitudinale de deux colonnes plates bidirectionnelles montées en série.

Dans la description détaillée qui suit, il sera fait référence à une installation de traitement d'échantillons complexes par séparation chromatographique sous flux forcé (ou OPLC). On entend ici par traitement d'un échantillon, principalement la séparation des constituants qui le composent, couplée, éventuellement, à une ou plusieurs analyse(s) en ligne et/ou hors ligne de ces constituants séparés.

L'installation illustrée sur la figure 1 comporte tout d'abord un module de pompage 1, alimenté par un réservoir de fluide porteur 2, et de préférence au moins deux réservoirs contenant des fluides porteurs différents.

Les fluides porteurs (ou phases mobiles) sont généralement des solvants qui doivent être introduits dans l'installation sous une pression choisie, qui varie selon la résistance à l'écoulement à l'intérieur de la phase stationnaire 3 (ou colonne plate de séparation), qui sera décrite plus loin. Le module de pompage 1 comporte une ou plusieurs pompes à débit constant, mais programmables, et pouvant fonctionner séquentiellement ou simultanément selon les besoins, par exemple pour générer un mélange sous la forme d'un gradient continu. Les solvants sont distribués sous une pression qui est du même ordre de grandeur que la pression externe appliquée à la colonne plate de séparation 3. A cet effet, les pompes sont conçues pour délivrer des pressions comprises entre environ 1 bar et 100 bars, et typiquement de l'ordre de 50 bars.

Les gradients sont réalisés soit sous haute pression dans une chambre de mélange (non représentée) par une programmation des débits relatifs des pompes à l'aide d'un module de commande de l'installation (non représenté), soit sous basse pression à l'aide d'une vanne permettant une alternance rapide et programmée. Les pompes peuvent être agencées de manière à recevoir plusieurs jeux de têtes offrant une large gamme de débits. La pression externe appliquée sur



la plaque peut être régulée en fonction de la pression nécessaire pour réguler l'unité de séparation.

Préférentiellement, le volume mort qui se crée entre l'instant de préparation du mélange des solvants et l'instant d'introduction dans la colonne 3 est minimisé  
5 par l'utilisation de têtes de pompe à volume réduit ainsi que par l'utilisation de capillaires d'alimentation de la colonne plate 3 de faible diamètre interne.

Egalement de préférence, le module de pompage 1 est agencé de manière à permettre l'utilisation de solvants organiques ou de solvants salins aqueux ou encore de combinaisons de ces solvants.

10 Les sorties du module de pompage 1 alimentent l'entrée d'un répartiteur 4 présentant par exemple une forme en étoile, ou toute autre forme permettant d'assurer un débit de fluides porteurs identique sur les différentes entrées d'alimentation 5 d'un contrôleur 6. Le nombre d'entrées est préférentiellement identique au nombre de canaux de séparation 12-i formés dans la phase  
15 stationnaire 3.

Bien entendu, chaque sortie du répartiteur 4, qui alimente une entrée 5 du contrôleur 6, peut être équipée d'une vanne de contrôle d'accès de manière à permettre des traitements sur un nombre restreint de canaux 12 de la colonne plate 3, et ainsi éviter d'utiliser, à vide, certaines parties de la colonne plate.

20 Bien entendu, en variante, la répartition peut également se faire sous la forme de circuits micro-fluidiques, du type de ceux qui seront décrits plus loin avec le module de séparation 7.

Le contrôleur 6 est équipé d'un dispositif permettant de surveiller les caractéristiques des fluides porteurs qui circulent dans l'installation. Il pourra s'agir,  
25 par exemple, de capteurs de pression permettant d'estimer la résistance à l'écoulement du débit de fluide programmé. Le contrôleur 6 peut également comporter des dispositifs d'équilibrage des pressions dans les différents canaux 12 de la colonne plate 3. Ces dispositifs d'équilibrage peuvent fonctionner, par exemple, par contrôle de l'écoulement. Il pourra s'agir, par exemple, de vannes à  
30 débit variable.



Les différentes sorties du contrôleur 6 (ici au nombre de 9) alimentent des premières entrées 8-i (dans cet exemple  $i = 1$  à 9) d'un module d'injection 9. Ce dernier comporte, de préférence, une multiplicité de vannes d'injection 10-i du type dit "à boucle interne" ou "à boucle externe". De telles vannes d'injection à boucle  
5 sont bien connues de l'homme du métier, et par conséquent elles ne seront pas décrites en détail ici. Elles comportent chacune, en plus d'une première entrée 8-i, une seconde entrée 11-i pour recevoir un échantillon, une première sortie 13-i pour alimenter les canaux 12-i de la colonne plate 3, ainsi que, de préférence, une seconde sortie (non représentée) pour évacuer un trop-plein de solvant (ou fluide  
10 porteur ou encore éluent) et/ou un trop-plein d'échantillon.

Les secondes entrées 11-i des différentes vannes d'injection 10-i sont soit toutes raccordées aux sorties parallèles d'un dispositif d'approvisionnement en échantillons 14 (qui contient en ce cas, et comme illustré, autant de sorties 27-i qu'il y a de vannes d'injection), soit susceptibles d'être raccordées à l'extrémité d'un bras  
15 à déplacement tridimensionnel (de type XYZ) d'un robot.

Ce dispositif d'approvisionnement en échantillons (ou robot) 14 peut être utilisé, soit pour introduire au niveau des secondes entrées 11-i du module d'injection 9 des échantillons préalablement préparés, soit pour préparer lui-même les échantillons avant qu'ils ne soient acheminés au niveau desdites secondes  
20 entrées 11-i. Dans ce second cas, la préparation des échantillons peut consister en une dilution dans le solvant qui alimente la première entrée 8-i de chaque vanne d'injection 10-i. Pour permettre ce type de préparation, il peut être avantageux de coupler le module de pompage 1 au dispositif d'approvisionnement 14.

D'autres types de préparation d'échantillons peuvent être envisagés. Ainsi,  
25 il est possible d'adjoindre à l'un des échantillons à traiter une molécule destinée à modifier son comportement spécifique lors de la séparation chromatographique dans la colonne plate 3, ou destinée à favoriser la détection de certaines molécules d'intérêt, par exemple par fluorescence.

Le mode de préparation par dilution peut être également utilisé pour  
30 générer des gammes d'étalonnage.

L'introduction d'un échantillon (préparé ou non) peut s'effectuer à l'aide



d'une seringue introduite dans la seconde entrée 11-i de chaque vanne 10-i. Cette étape d'approvisionnement des vannes d'injection 10-i peut s'effectuer pendant un précédent cycle de séparation d'échantillons. Bien entendu, au lieu d'une unique aiguille manipulée par un bras à déplacement tridimensionnel, on peut prévoir une multiplicité d'aiguilles (en nombre égal à celui des secondes entrées 11-i du module d'injection 9, de manière à permettre une introduction simultanée d'échantillons.

Les vannes d'injection 10-i peuvent posséder leur propre motorisation, ou bien une motorisation commune, pilotée par le robot d'approvisionnement ou directement par le module de commande, programmable. Comme mentionné précédemment, ce module de commande pilote, de préférence, tous les composants de l'installation, et notamment le module de pompage 1, le répartiteur 4, le contrôleur 6, le robot d'approvisionnement 14, les différentes vannes d'injection 10-i, le module de séparation 7, et un module de détection 15 et un module de collecte 16 qui seront décrits plus loin.

Les premières sorties 13-i des vannes d'injection 10-i alimentent les différentes entrées du module de séparation 7. Celui-ci est réalisé sous la forme d'une chambre 17 adaptée pour recevoir au moins une couche formant la colonne plate de séparation 3 qui définit une ou deux phases stationnaires. Cette couche (ou en anglais "sorbent layer") peut être constituée de poudre ou particules de gel de silicate, alumine, silicate de magnésium, talc à base de composants inorganiques, cellulose, résine synthétique, polyamides, à base de composants organiques, ou bien de dérivés ou mélanges de certains de ces composants. Elle est déposée sur une plaque support. Il est clair que le matériau utilisé et son état de surface (granularité, porosité et analogue) dépendent du type des échantillons à traiter.

Bien entendu, l'injection peut s'effectuer simultanément (ou en parallèle), ou séquentiellement (ou en série).

La chambre de séparation 17 étant celle qui est classiquement utilisée en OPLC, elle ne sera donc pas décrite en détail ci-après. En d'autres termes, tout type de chambre d'OPLC peut être utilisé dans une installation selon l'invention, qu'il s'agisse d'une chambre classique à joint périphérique ou d'une chambre



complexe à contrôle de pression du type de celle décrite dans le document brevet FR 0000063 de la demanderesse. D'autres types de chambres d'OPLC peuvent être également envisagées. Ainsi, on peut envisager une chambre dans laquelle on effectue la séparation des constituants d'échantillons en utilisant la face inférieure de la phase stationnaire. On peut également envisager une chambre dans laquelle on effectue la séparation des constituants d'échantillons en utilisant simultanément les faces supérieure et inférieure de la phase stationnaire.

Préférentiellement, cette chambre 17 comporte un tiroir extractible à ouverture et fermeture automatisés, contrôlé par le module de commande, et dans lequel peut être placé une ou plusieurs colonnes plates 3, ainsi qu'un dispositif permettant d'exercer une pression externe sur l'une des faces (supérieure ou inférieure) de la (ou chaque) colonne plate 3. Bien entendu, la chambre 17 comporte une multiplicité d'entrées pour alimenter les différents canaux 12-i formés dans la colonne plate 3. Par ailleurs, la chambre 17 comporte une multiplicité de sorties 18-i pour évacuer les fluides et/ou les échantillons traités dans les différents canaux de séparation 12-i. Le tiroir extractible peut faire partie d'une cassette extractible réalisée sous la forme d'une boîte équipée d'entrées/sorties et de circuits fluidiques.

Préférentiellement, et comme illustré sur les figures 1 à 3, les canaux 12-i formés dans la colonne plate 3 présentent, dans une vue en coupe longitudinale, une forme trapézoïdale, le petit côté du trapèze étant utilisé comme entrée 19-i du canal 12-i et le grand côté servant de sortie 20-i audit canal.

Cette forme trapézoïdale est particulièrement avantageuse dans la mesure où elle permet de créer un champ de vitesse décroissant (linéaire) suivant l'axe longitudinal du canal 12-i. Ainsi, la partie postérieure d'un pic donné possède une vitesse supérieure à celle de la partie antérieure dudit pic, ce qui favorise la focalisation des pics.

Comme illustré sur les figures 2 et 3, et dans le but d'optimiser le nombre de canaux 12-i, on peut former sur une même colonne plate 3 une alternance de premiers canaux 12-i, 12-i+2 (par exemple trapézoïdaux) dont les entrées 19-i, 19-i+2 sont toutes placées d'un même côté et de seconds canaux trapézoïdaux 12-i+1



dont les sorties 20-i+1 sont placées du côté des entrées des premiers canaux. Bien entendu, dans ce cas la chambre de séparation 17 comporte de chaque côté une alternance d'entrées et de sorties 19-i et 20-i.

Dans une autre variante, les entrées 13-i de la chambre 17 peuvent  
5 alimenter un premier endroit choisi placé, sensiblement, au milieu de la colonne plate 3 et alimentant deux séries de canaux 12-i orientées de façon opposée en assurant ainsi un mode de séparation bi-directionnel comportant une multiplicité d'entrées et deux multiplicités de sorties, les deux multiplicités de canaux 12 ainsi formées pouvant être, éventuellement, formées dans des matériaux différents.

10 Dans le cas de canaux de forme trapézoïdale, au lieu de débiter la séparation au niveau du petit côté du trapèze (ce qui convient bien dans le cas d'une élution par un solvant de type isocratique), on peut débiter la séparation au niveau du grand côté du trapèze (ce qui convient bien dans le cas d'une élution par un gradient de solvant).

15 Bien entendu, d'autres formes de canaux peuvent être envisagées, et notamment des canaux présentant une entrée en forme d'entonnoir (ou évasée), prolongée par une partie principale sensiblement linéaire.

Par définition, on désigne par « premier endroit choisi » un endroit alimentant l'entrée 19-i d'un canal 12-i, et par « second endroit choisi » un endroit  
20 alimenté par la sortie 20-i d'un canal 12-i.

Dans une autre variante, deux colonnes plates (ou plus) peuvent être superposées l'une au dessus de l'autre et séparées par leur base. Dans ce cas, les entrées et les sorties de la chambre peuvent être superposées.

Dans une autre variante illustrée sur la figure 3, on peut placer en série  
25 deux colonnes plates différentes, ou bien une colonne plate 3 constituée de deux parties 21 et 22 réalisées dans des matériaux de préférence différents ou dans un même matériau mais présentant des propriétés différentes, par exemple des granulométries différentes. A titre d'exemple, on peut prévoir une grosse granulométrie en entrée, sur une petite distance, suivie par une granulométrie plus  
30 fine, sur une grande distance.



Les colonnes plates 3 sont constituées, de préférence uniformément, d'une même phase stationnaire placée sur un même support (qu'il s'agisse d'un support de phase normale ou de phase inversée, ou d'un support pour l'échange d'ions ou pour la chromatographie d'affinité, ou encore pour la chromatographie d'exclusion).

5 Une autre variante consiste à placer en série deux colonnes plates, par exemple dans deux chambres successives, sur lesquelles sont mises en oeuvre deux techniques de chromatographie différentes, comme par exemple une chromatographie d'exclusion, suivie d'une chromatographie d'échange d'ions.

On peut également envisager de « séparer » les canaux par des barrières  
10 fluidiques, par exemple en faisant circuler un éluant (ou l'éluant) entre lesdits canaux. Cela permet de réduire notablement les effets de bords des fronts d'échantillons dans les canaux.

On peut également envisager d'ajouter, en amont des entrées de la chambre 17, une colonne de chromatographie pour chaque canal 12-i de la  
15 colonne plate 3 qui est logée dans cette chambre.

La phase stationnaire 3 placée à l'intérieur de la chambre 17 présente des dimensions standard, typiquement 200 mm x 200 mm x 0,005 à 5 mm.

Par ailleurs, et comme indiqué précédemment, la chambre comporte des moyens de pressurisation permettant d'appliquer une pression externe comprise  
20 entre environ 1 bar et 100 bars, typiquement 50 bars. Préférentiellement, la pression peut être fixée par pas de 1 bar à +/- 0,5 bar près. Par ailleurs, cette pression externe est avantageusement homogène sur toute la surface.

A titre d'exemple non limitatif, les moyens de pressurisation peuvent comporter un film flexible imperméable, par exemple en téflon, placé au-dessus de  
25 la face supérieure de la colonne plate 3. La pression qui est exercée sur ce film à l'aide d'un fluide de pressurisation plaque ledit film contre la face supérieure de la colonne plate en lui transférant la pression. Lorsque la colonne plate 3 est initialement logée dans une cassette destinée à être introduite dans la chambre 17, la paroi supérieure de la cassette peut, éventuellement, comprendre le film flexible  
30 de pressurisation externe.



Le film flexible peut comporter des passages étanches pour l'introduction des échantillons à traiter et des solvants en regard des premiers endroits 19-i des canaux 12-i. On peut également, éventuellement, prévoir une chambre équipée d'entrées pour le fluide porteur et d'entrées pour les échantillons. Bien entendu, dans ce cas, les injecteurs 10-i ne servent qu'à alimenter la colonne plate en fluide porteur, les échantillons étant alors directement introduit au niveau des premiers endroits de la colonne plate 3.

L'installation selon l'invention peut en effet fonctionner soit par injection des échantillons au niveau du module d'injection 6, soit par injection des échantillons directement dans la chambre 17, soit encore par introduction des échantillons sur la colonne plate 3 avant que celle-ci ne soit placée à l'intérieur de la chambre 17.

La pression extérieure qui est appliquée sur la colonne plate 3 est, comme mentionné précédemment, programmée à l'aide du module de commande. Cette pression peut, selon les besoins, varier au cours du cycle de séparation.

Le fluide de pressurisation peut être un gaz ou un liquide tel que de l'huile. Ce fluide de pressurisation circule de préférence dans un circuit fermé qui débouche dans un réservoir de fluide de pressurisation externe, lequel peut être logé dans le module de pompage 1 et couplé à une micro-pompe contrôlée par le module de commande de l'installation.

D'autres moyens de pressurisation externe peuvent être envisagés, comme par exemple des moyens mécaniques, ou pneumatiques, ou analogues.

L'alimentation de la colonne plate 3 en fluide porteur et/ou échantillons peut être effectuée à l'aide de circuits micro-fluidiques construits entre deux lamelles en téflon, par exemple.

De préférence, les colonnes plates 3 utilisées sont de faible volume de manière à limiter la quantité de solvant (ou fluide porteur) nécessaire à la séparation en parallèle. Ainsi, une colonne de 100  $\mu\text{m}$  d'épaisseur comportant 8 canaux de séparation parallèles, présente un volume total de 25  $\mu\text{l}$  par cm de longueur de colonne.

La colonne plate 3 (ou phase stationnaire) pourra comporter plusieurs



zones identiques ou différentes, chacune permettant d'effectuer un traitement particulier (séparation et/ou analyse). Dans ce cas, les moyens de pressurisation externe utilisés dans les différentes zones pourront être éventuellement différents, ou bien ils pourront être identiques mais assurer des pressions différentes.

5 De préférence, l'installation comporte également des moyens de régulation de température (non représentés). Ces moyens de régulation sont destinés à réguler en température la colonne plate 3 ainsi qu'éventuellement les solvants (ou fluides porteurs). Dans les séparations classiques, la température est fixée et maintenue pendant toute la phase de séparation. Cependant, dans certains cas, il  
10 est nécessaire de faire varier la température en cours de séparation de manière à modifier l'affinité ou l'hybridation de certaines molécules, par exemple.

En variante, au lieu de faire varier la température à l'intérieur d'une unique chambre de séparation, on prévoit un module de séparation 7 équipé de deux  
chambres 17 montées en série, dans lesquelles les températures sont différentes.  
15 Dans ce cas, comme on le verra plus loin, il est avantageux de prévoir, en sortie de la première chambre, des moyens de détection, de préférence de type non invasif, couplés à des vannes, de type trois voies, de manière à aiguiller vers la seconde chambre de séparation une fraction des composants d'échantillons séparés, et sélectionnés par les moyens de détection.

20 La chambre de séparation 17 peut, par ailleurs, comporter des électrodes alimentées par un module d'alimentation en courant à haute tension, en vue d'une séparation par électro-chromatographie ou électrophorèse. Ces électrodes peuvent être placées parallèlement ou perpendiculairement au débit, l'électrophorèse s'effectuant soit simultanément, soit séquentiellement, relativement à la séparation  
25 par la phase mobile. La séparation chromatographique et électrophorétique peut être effectuée simultanément ou séquentiellement sur la phase stationnaire pré-mouillée, en utilisant des électrodes parallèles ou perpendiculaires au flux. L'électrophorèse est bien entendu effectuée en phase humide (ou mouillée).

Le remplacement d'une colonne plate 3 dans la chambre de séparation 17  
30 se fait, de préférence, à l'aide d'un bras à déplacement tridimensionnel piloté par le module de commande. Il peut éventuellement s'agir du même bras que celui utilisé



pour alimenter les injecteurs 10-i en échantillons, mais il est préférable d'utiliser deux bras différents et spécialisés. Par exemple, le retrait du support sur lequel se trouve placé la colonne plate 3 peut s'effectuer à l'aide d'une ventouse placée à l'extrémité du bras, ou bien par collage magnétique (par exemple lorsque le support de la phase stationnaire est métallisé on peut utiliser un outil de préhension équipé d'un électro-aimant).

La chambre de séparation 17 est agencée pour interdire l'évacuation de l'air contenu dans les canaux de séparation 12-i pendant que le fluide porteur (ou éluant ou encore phase mobile) se dirige vers l'entrée 19-i des canaux de séparation 12-i, jusqu'à ce que la pression d'alimentation en fluide porteur devienne égale à 80% environ de la pression externe appliquée sur la colonne plate 3. Ensuite, les sorties 18-i sont ouvertes.

Comme cela est illustré sur la figure 1, les sorties 18-i de la chambre de séparation 17 alimentent un module de détection permettant d'effectuer un type d'analyse choisi simultanément sur les différents échantillons séparés dans les canaux 12-i de la colonne plate 3. Par exemple, le module de détection 15 comporte une multiplicité de capillaires 23-i de diamètre interne choisi et présentant en au moins un endroit choisi une zone transparente pour permettre le passage d'un rayon lumineux de détection soit transversalement dans leur épaisseur, soit longitudinalement lorsque le capillaire présente une forme repliée de type en « Z ». La détection transversale est préférable dans les applications préparatives, tandis que la détection longitudinale assure une meilleure sensibilité dans les applications analytiques.

Ce type de détection photonique non-invasive s'effectue de préférence dans le domaine du visible et/ou de l'ultra-violet. Il est avantageux de prévoir dans une même installation plusieurs types de détection photonique dans des gammes de longueurs d'onde différentes, de manière à augmenter le nombre d'applications possible. Dans ce cas, le module de commande pilote le module de détection de manière à sélectionner une longueur d'onde choisie par l'utilisateur. La lumière de détection peut être acheminée au niveau des capillaires 23-i, à l'aide de fibres optiques 24-i (partiellement représentées) et recueillie, après traversée des



capillaires, par d'autres fibres optiques (non représentées).

Bien entendu, d'autres types de détection peuvent être prévus soit à la place de la détection photonique décrite ci-avant, soit en complément de celle-ci (on parle alors de seconds moyens de détection). On citera par exemple la détection de  
5 fluorescence, la détection par réfractométrie, la détection par diffraction de lumière, ou la détection par spectrométrie de masse.

Lorsque deux types différents de détection sont assurés par l'installation, il est préférable que ceux-ci soient montés en série, la détection non-invasive étant placée la plus en amont. La détection invasive peut porter sur tout ou partie du  
10 volume fluide ayant fait l'objet de la séparation.

Un multiplexage des échantillons traités peut être effectué soit en amont de l'injection dans le module de détection, soit dans le spray lorsque le module de détection est un spectromètre de masse.

Il est également possible d'effectuer une dérivation en amont ou aval de la  
15 colonne plate 3 en adjoignant une molécule destinée à révéler directement ou indirectement les molécules séparées. Il pourra s'agir, par exemple, de molécules de colorant ou fluorescentes. Les modalités de cette adjonction doivent respecter les paramètres nécessaires à l'expression optimale de la coloration (par exemple des molécules de nihydrine adjointes aux acides aminés).

Préférentiellement et comme illustré sur la figure 1, l'installation comporte  
20 un module de collecte de fluide (ou phase mobile) 16, alimenté par les sorties du module de détection 15. Avantageusement, la collecte s'effectue de façon individualisée (ou en parallèle) sur chacune des sorties du module de détection 15, par exemple à l'aide de récipients de collecte 25-i indépendants les uns des autres.  
25 Pour collecter les composants séparés, on peut utiliser des récipients de type tube ou microplaque ou analogue.

En variante, on peut prévoir en sortie de chaque voie de détection deux récipients de collecte indépendants, couplés à une vanne trois voies pilotée par le module de commande en fonction des résultats de la détection. Ainsi, il est possible  
30 d'aiguiller des fractions non intéressantes des échantillons séparés dans l'un des



réipients pour récolter dans l'autre réipient les fractions jugées intéressantes lors de la détection. Une telle vanne trois voies peut être placée directement à l'extrémité des capillaires 23-i du module de détection 15.

5 Dans une autre variante, illustrée sur la figure 1, on prévoit également une multiplicité de vannes trois voies 28-i en sortie des capillaires 23-i, mais cette fois-ci, l'une des sorties de chaque vanne 28-i gère l'accès à un réipient 25-i tandis que l'autre sortie alimente un second module de détection 29-i.

Le second module de détection (ou seconds moyens de détection 29-i) peut selon les variantes effectuer soit une analyse simultanée sur une multiplicité  
10 de voies, soit une analyse séquentielle sur une unique voie, des échantillons traités. Ces seconds moyens de détection sont choisis, de préférence, dans un groupe comprenant un module de détection de fluorescence, un module de détection par réfractométrie, un module de détection par diffraction de lumière, et un module de spectrométrie de masse.

15 D'une façon générale, tout type de collecte peut être envisagé, soit en volume (par exemple on collecte tous les n millilitre), soit en temps (par exemple on collecte toutes les n secondes), soit en détection de signal sur un canal, par comparaison à un seuil ou bruit de fond.

Préférentiellement, le module de commande est couplé à (ou intégré dans)  
20 un ordinateur 26 comportant des moyens d'affichage 27, tels qu'un moniteur, et des moyens d'interface utilisateur, pour permettre la programmation des composants de l'installation et l'affichage des résultats des détections simultanées, fournis par les différents modules de détection (15,29).

Comme indiqué précédemment, l'installation peut fonctionner selon  
25 plusieurs modes. Dans un premier mode de fonctionnement, dit "d'infusion-transfusion" ou "en ligne", les constituants séparés par les canaux 12-i de la colonne plate 3 sont identifiés et/ou quantifiés sur cette même colonne plate 3 et/ou en dehors de la chambre 17 par analyse de la phase mobile délivrée sur ses différentes sorties 18-i. Dans ce mode de fonctionnement, il est possible d'introduire  
30 l'échantillon sur la colonne plate 3 (ou phase stationnaire) avant infusion, c'est-à-dire avant introduction de la phase mobile. Mais, il peut en être autrement, une



étape d'infusion précédant alors l'introduction de l'échantillon. Le volume nécessaire à une telle infusion est connu du module de commande dès lors que celui-ci connaît le type de phase stationnaire utilisé.

Lorsque l'installation fonctionne dans ce mode d'infusion/transfusion, les  
5    moyens d'infusion/transfusion sont de préférence placés en sortie (il s'agit par exemple d'une vanne de contrôle placée en sortie de la phase stationnaire, comme décrit dans le document FR 0000063), de manière à faciliter le conditionnement d'une nouvelle colonne et à limiter les microbulles d'air qui sont dommageables à la détection des constituants séparés des échantillons.

10    Dans un second mode de fonctionnement, dit "d'infusion" ou "hors ligne", on n'effectue qu'une séparation des constituants de l'échantillon sur la colonne plate 3, l'analyse (ou détermination) et/ou la quantification de ces constituants s'effectuant dans un analyseur externe après extraction de la colonne plate 3 de l'intérieur de la chambre de séparation 17. Tout type d'analyse connu de l'homme  
15    du métier peut être envisagé. Dans ce mode d'infusion, l'échantillon peut être placé avant ou après introduction de la phase stationnaire à l'intérieur de la chambre de séparation 17. Préférentiellement, on part d'une phase stationnaire 3 "sèche", c'est-à-dire avant qu'elle ne soit alimentée en phase mobile (ou fluide porteur). Dans le mode d'infusion-transfusion, une fois que la séparation est terminée, l'analyse des  
20    constituants est effectuée sur la phase stationnaire 3 et/ou à l'extérieur en utilisant la phase mobile qui sort de la chambre de séparation 17 par ses sorties 18-i.

L'invention concerne également un procédé de traitement d'échantillons par séparation chromatographique destiné à être mis en œuvre dans une installation du type de celle présentée ci-avant.

25    De nombreuses applications peuvent être envisagées pour l'installation selon l'invention. Une première application concerne les séparations dites « en phase normale » et « en phase inversée ». La phase normale concerne plus directement les molécules ou macromolécules de type hydrophile, tandis que la phase inversée concerne plus directement les molécules de type hydrophobe  
30    utilisées dans les phases stationnaires dites « C8 » (comportant des chaînes carbonées de huit carbones) ou « C18 » (comportant des chaînes carbonées de



dix-huit carbones)).

Par exemple, l'analyse des métabolites se fait classiquement en phase inversée, de nombreux échantillons devant être analysés dans un temps très court. Dans ce cas, il est avantageux que les injecteurs du module d'injection préparent  
5 les échantillons en extrayant les métabolites du milieu biologique. Le module de pompage réalise, pour ce faire, un gradient de solvant d'acétonitrile (pur ou mélangé ou de méthanol (pur ou mélangé).

Une seconde application concerne le criblage (ou en anglais "screening") de molécules. Dans ce cas, un ligand est couplé sur la tête de la phase stationnaire  
10 de la colonne selon les techniques connues dans le domaine de la chromatographie d'affinité. Les molécules ou macromolécules sont alors injectées dans les canaux de séparation 12-i, et celles qui présentent une affinité pour le ligand sont retenues par celui-ci, tandis que les autres sont lavées et éliminées de la colonne. Ensuite, on effectue une élution à l'aide d'un solvant approprié  
15 (présentant une haute concentration en sel, ou en augmentant la température, ou en utilisant un agent dénaturant), de manière à décrocher les molécules affines. Un autre exemple concerne la greffe d'un ligand spécifique pour chaque canal de séparation 12-i. A chaque cycle, une même molécule ou macromolécule est injectée dans les différents canaux de séparation de manière à tester son affinité  
20 avec une multiplicité de ligands différents. Cela permet d'effectuer un criblage d'une bibliothèque de molécules ou macromolécules simultanément.

Une forme particulière de chromatographie d'affinité est l'immuno-chromatographie, dans laquelle le ligand est un anticorps, de préférence monoclonal. Une autre forme de chromatographie d'affinité est l'hybridation  
25 moléculaire, dans laquelle le ligand est une chaîne d'acide nucléique complémentaire de l'acide nucléique que l'on cherche à analyser ou à séparer.

Une troisième application concerne la séparation par échange d'ions.

Une quatrième application concerne les applications préparatives notamment en chimie combinatoire ou en extraction de produits naturels.

30 Toutes les techniques précitées sont bien connues de l'homme du métier.



L'invention ne se limite pas aux modes de réalisation de dispositifs et de procédés décrits ci-avant, seulement à titre d'exemple, mais elle englobe toutes les variantes que pourra envisager l'homme du métier dans le cadre des revendications ci-après.

5           Ainsi, selon les positionnements respectifs des premier(s) et second(s) endroits choisis la séparation pourra être unidirectionnelle ou bien bidirectionnelle, ou circulaire, ou encore anti-circulaire. Mais tout cela est bien connu de l'homme du métier, et ne fait pas l'objet de la présente invention.

10           Par ailleurs, on a décrit une installation dans laquelle la chambre de séparation ne traitait qu'une ou plusieurs phases stationnaires placées les unes à côté des autres sur un même support. Mais la chambre peut être adaptée pour recevoir plusieurs phases stationnaires empilées les unes sur les autres, avec ou sans support, et utilisées en série ou en parallèle, avec ou sans intercalaire.

15           En outre, on a décrit un mode de réalisation dans lequel on introduisait une phase mobile liquide pour entraîner les constituants de l'échantillon. Mais, l'invention s'applique également lorsque l'on introduit tout d'abord un solvant puis que l'on utilise un gaz tel que de l'air pour déplacer (chasser) le solvant mélangé aux constituants de l'échantillon. L'air sert alors, en quelque sorte, de phase mobile. Cette technique est connue sous le nom de chromatographie « flash ». Il en résulte  
20           que dans tout ce qui précède, la phase mobile doit être prise dans une définition large, à savoir « fluide d'entraînement ».



Revendications

1. Installation de traitement d'échantillons par séparation chromatographique, caractérisée en ce qu'elle comprend :

- 5 \* des moyens d'alimentation en phase mobile (1,2,4), sous un débit choisi et/ou une pression limite choisie,
- \* des moyens d'approvisionnement (14) agencés pour délivrer séparément une multiplicité d'échantillons,
- 10 \* une multiplicité de moyens d'injection (10-i) comportant chacun au moins une première entrée (11-i) propre à recevoir un échantillon délivré par lesdits moyens d'approvisionnement (14), une seconde entrée (8-i) raccordée aux moyens d'alimentation, et au moins une sortie (13-i) agencée pour délivrer la phase mobile et/ou l'échantillon,
- 15 \* au moins une phase stationnaire (3) définissant au moins une multiplicité de canaux (12-i) de traitement d'échantillon débutant chacun en un premier endroit choisi (19-i) et débouchant en un second endroit choisi (20-i), et
- \* au moins une chambre (17) agencée pour loger ladite phase stationnaire (3) et comportant i) des moyens de pressurisation externe propres à appliquer une pression externe d'intensité choisie sur une face de la phase stationnaire, ii) une
- 20 multiplicité d'entrées raccordées chacune à la sortie (13-i) d'un moyen d'injection (10-i) de manière à délivrer la phase mobile et/ou lesdits échantillons au niveau des différents premiers endroits (19-i), et iii) au moins une première multiplicité de sorties (18-i) pour évacuer la multiplicité d'échantillons traités dans les canaux (12-i) et parvenus au niveau des différents seconds endroits.

25 2. Installation selon la revendication 1, caractérisée en ce que lesdits moyens d'injection (10-i) sont choisis dans un groupe comprenant les vannes d'injection à boucle interne et les vannes d'injection à boucle externe.

3. Installation selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisée en ce qu'elle comprend des moyens de collecte (16) agencés pour collecter chaque



échantillon traité et/ou phase mobile délivré(s) par chacune des sorties (18-i) de la chambre (17), en vue de le(s) stocker dans un récipient (25-i) d'une multiplicité de récipients.

4. Installation selon la revendication 3, caractérisée en ce que lesdits  
5 moyens de collecte (16) sont agencés pour effectuer la collecte selon un mode choisi dans un groupe comprenant le mode volumique, le mode temporel et le mode de détection de seuil de signal.

5. Installation selon l'une des revendications 3 et 4, caractérisée en ce  
que lesdits moyens de collecte (16) comportent une multiplicité de sorties et des  
10 moyens d'aiguillage (28-i) agencés pour délivrer sur ordre chaque échantillon et/ou phase mobile collectée au niveau de l'un desdits récipients et/ou au niveau de l'une desdites sorties.

6. Installation selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en ce  
qu'elle comprend des premiers moyens de détection (15) agencés pour analyser  
15 séquentiellement les échantillons traités délivrés par les différentes sorties (18-i) de la chambre (17).

7. Installation selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en ce  
qu'elle comprend des premiers moyens de détection (15) agencés pour analyser  
simultanément les échantillons traités délivrés par les différentes sorties (18-i) de la  
20 chambre (17).

8. Installation selon la revendication 7 en combinaison avec l'une des  
revendications 3 à 5, caractérisée en ce que lesdits premiers moyens de détection  
(15) sont installés entre lesdites sorties (18-i) de la chambre (17) et lesdits moyens  
de collecte (16).

25 9. Installation selon l'une des revendications 3 à 8, caractérisée en ce  
que lesdits premiers moyens de détection (15) sont agencés pour effectuer une  
détection de type non invasif, en particulier une détection photonique dans le  
domaine du visible et/ou de l'ultra-violet.

10. Installation selon l'une des revendications 8 et 9, caractérisée en ce  
30 qu'elle comprend des seconds moyens de détection (29-i) agencés pour analyser



simultanément sur une multiplicité de voies, ou séquentiellement sur une unique voie, les échantillons traités.

11. Installation selon la revendication 10, caractérisée en ce que lesdits seconds moyens de détection sont choisis dans un groupe comprenant un module  
5 de détection de fluorescence, un module de détection par réfractométrie, un module de détection par diffraction de lumière, et un module de spectrométrie de masse.

12. Installation selon l'une des revendications 3 à 11, caractérisée en ce qu'elle comprend des moyens de mémorisation (26) agencés pour stocker les résultats délivrés par lesdits moyens de détection (15,29).

10 13. Installation selon l'une des revendications 1 à 12, caractérisée en ce que ladite chambre (17) comporte des électrodes alimentées par un module d'alimentation en courant à haute tension, de manière à effectuer une séparation par électro-chromatographie, lesdites électrodes étant placées parallèlement ou perpendiculairement au débit.

15 14. Installation selon l'une des revendications 1 à 13, caractérisée en ce que lesdits moyens d'approvisionnement en échantillons (14) comprennent un dispositif de préhension d'échantillon à déplacement tri-dimensionnel, agencé pour alimenter en échantillons les différentes premières entrées (11-i) des moyens d'injection (10-i).

20 15. Installation selon l'une des revendications 1 à 14, caractérisée en ce que ladite chambre (17) est agencée pour recevoir un tiroir extractible comprenant ladite phase stationnaire.

25 16. Installation selon l'une des revendications 1 à 15, caractérisée en ce qu'elle comprend des moyens de régulation agencés pour contrôler la température d'une partie au moins de la phase stationnaire (3) à l'intérieur de la chambre (17).

17. Installation selon l'une des revendications 1 à 16, caractérisée en ce que certains au moins desdits canaux (12-i) formés sur une phase stationnaire (3) présentent une forme sensiblement trapézoïdale.

30 18. Application de l'installation selon l'une des revendications précédentes à la séparation en phase normale ou en phase inversée.



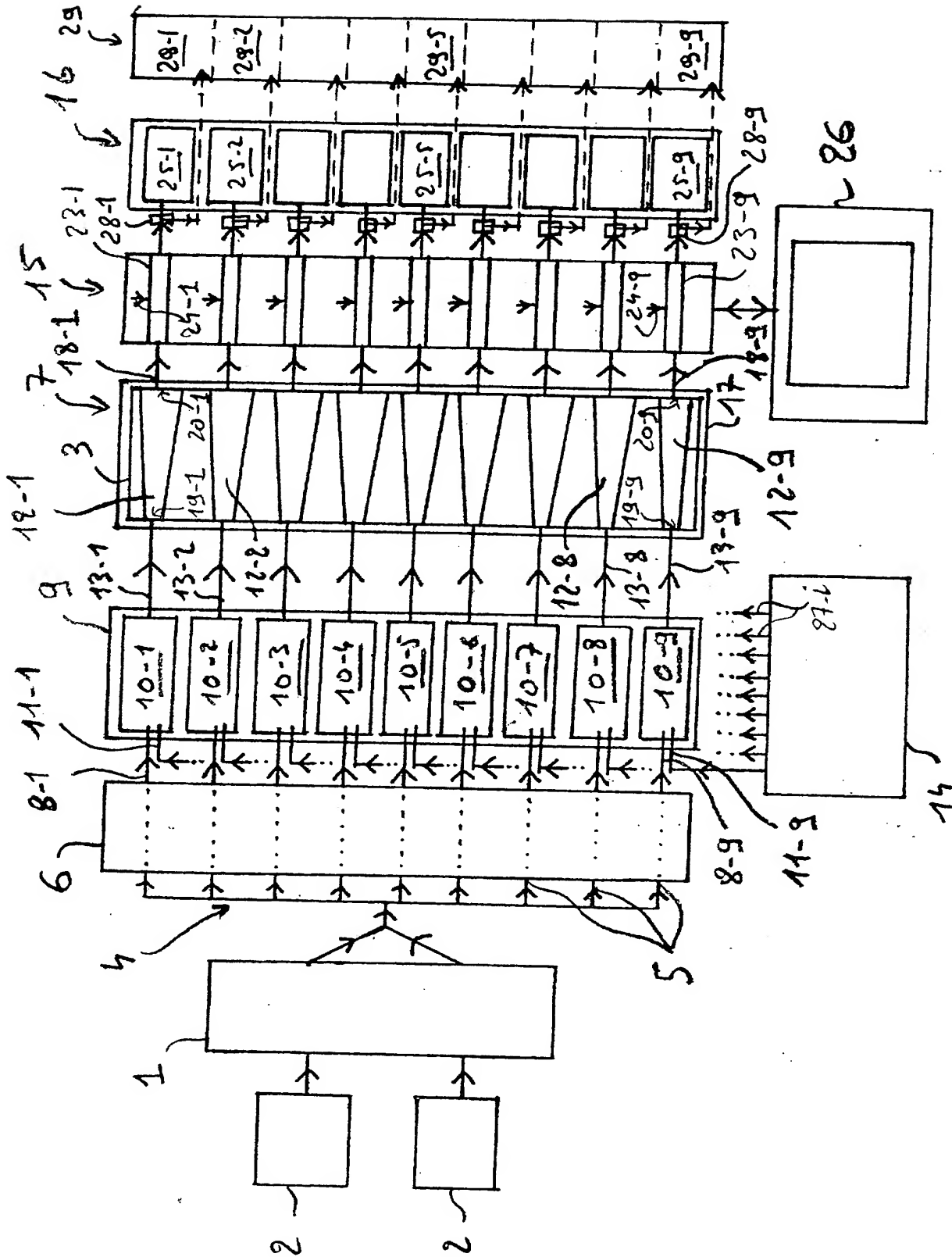
19. Application de l'installation selon l'une des revendications 1 à 17 au criblage de molécules par chromatographie d'affinité, en particulier par immuno-chromatographie ou par hybridation moléculaire.

20. Application de l'installation selon l'une des revendications 1 à 17 à la  
5 séparation par échange d'ions.

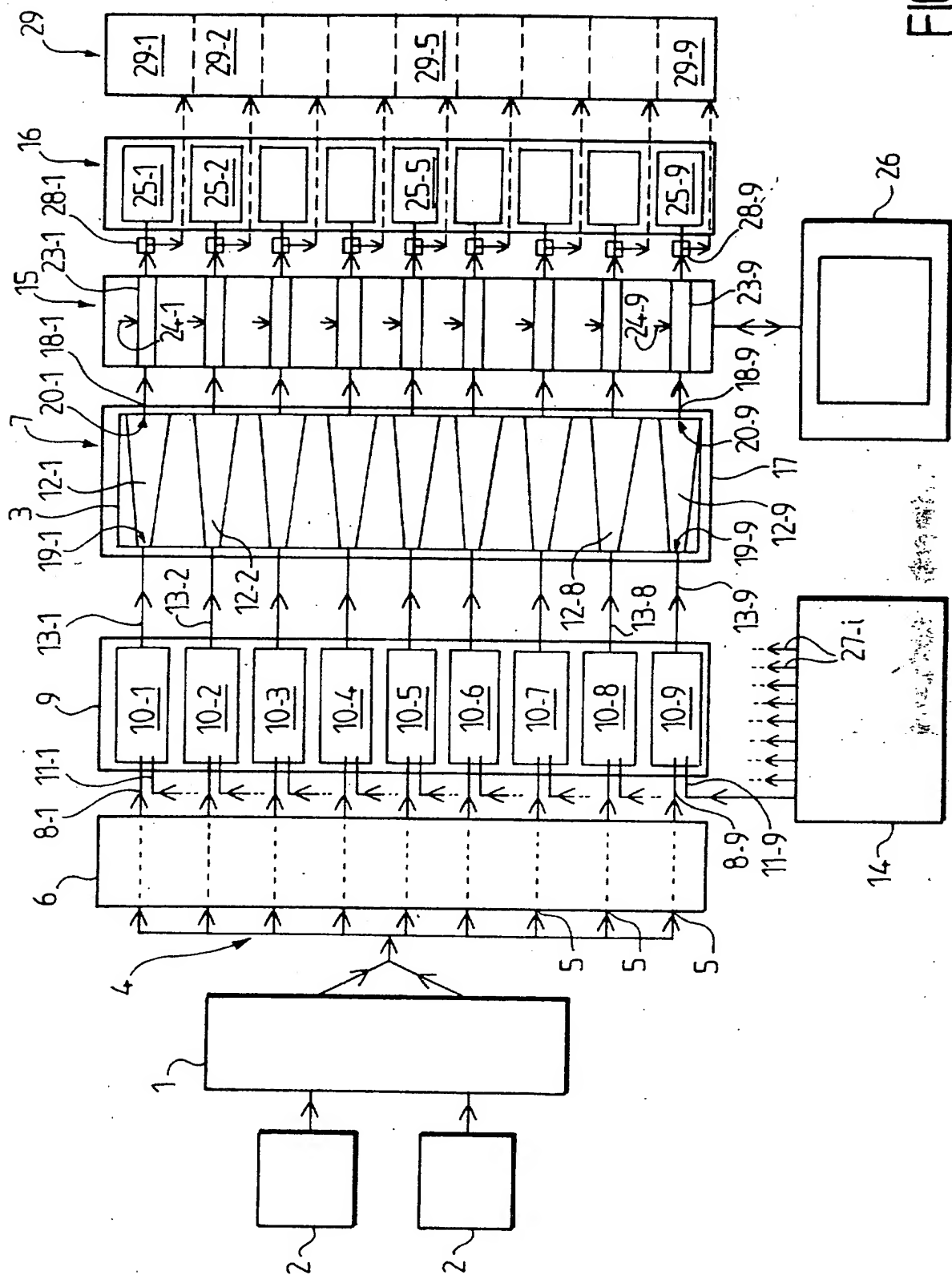
21. Application de l'installation selon l'une des revendications 1 à 17 à la préparation d'échantillons pour la chimie combinatoire ou l'extraction de produits naturels.



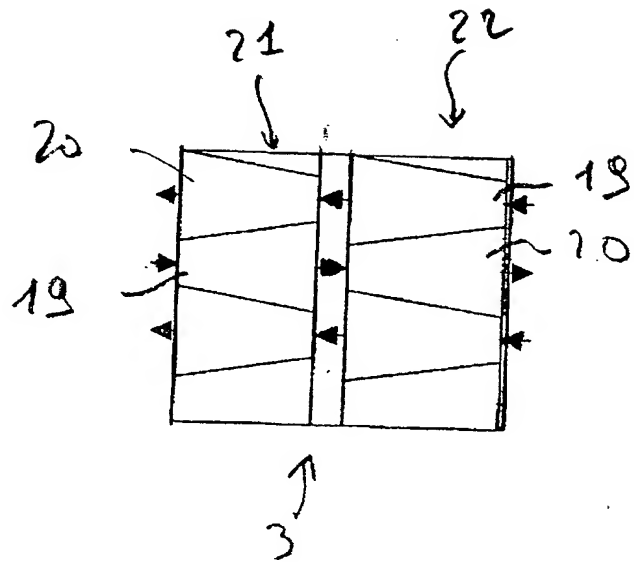
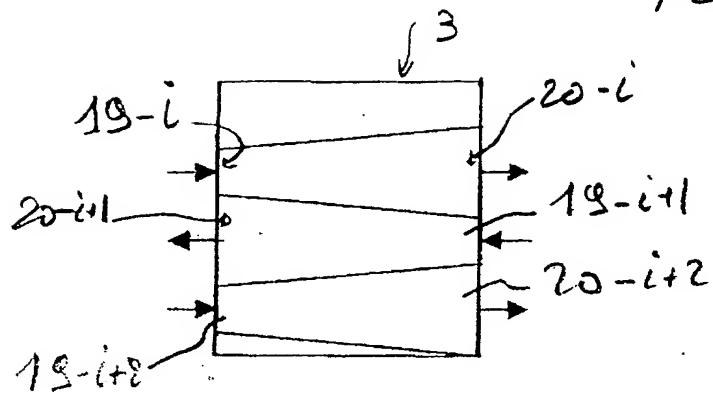
1/2













2/2

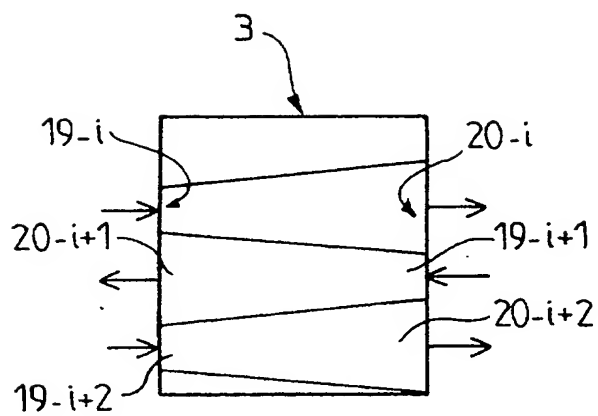


FIG. 2

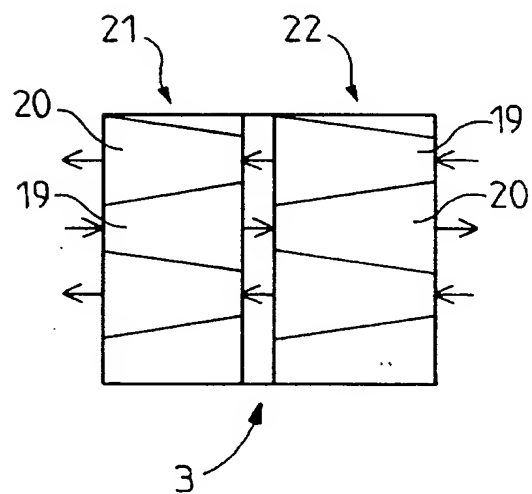


FIG. 3





DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

**BREVET D'INVENTION****CERTIFICAT D'UTILITÉ**

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



N° 11 235\*02

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1. / 1.

(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 260899

<b>Vos références pour ce dossier</b> (facultatif)		B4745-LBi	
<b>N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL</b>		0104745	
<b>TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)</b> INSTALLATION DE TRAITEMENT D'ECHANTILLONS EN CONTINU, PAR SEPARATION SUR UNE PHASE STATIONNAIRE, SOUS FLUX FORCE.			
<b>LE(S) DEMANDEUR(S) :</b> BIONISIS S.A.  Représentée par : ERNEST GUTMANN-YVES PLASSERAUD S.A. 3 rue Chauveau-Lagarde 75008 PARIS			
<b>DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :</b> (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages).			
Nom		MANACH	
Prénoms		Michel	
Adresse	Rue	1 rue Basse de la Terrasse	
	Code postal et ville	92190	MEUDON
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom		MINCSOVICS	
Prénoms		Emil	
Adresse	Rue	Szent István u. 1	
	Code postal et ville	2000	SZENTENDRE - Hongrie
Société d'appartenance (facultatif)			
Nom		TAPA	
Prénoms		Barnabás	
Adresse	Rue	Gervay u. 38.	
	Code postal et ville	1147	BUDAPEST - Hongrie
Société d'appartenance (facultatif)			
<b>DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE</b> (Nom et qualité du signataire) Paris, le 6 avril 2001 VAILLANT Jeanne CPI n° 97.0801			